

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 42

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PRATIQUE DU SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

Comparaison des résultats donnés par la mise en
jeu du sérum et par celle du sang desséché
(Réactions de fixation du complément
et réactions de floculation).

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1940

PAR

Michel LEMELAND

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
et de l'Hôpital de l'Institut Pasteur
Diplômé de Sérologie et de Bactériologie
de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. LUTZ, *Président.*
BACH, *Professeur.*
RÉGNIER, *Maitre de Conférences.*

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1940

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U. N° 42

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PRATIQUE DU SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

Comparaison des résultats donnés par la mise en
jeu du sérum et par celle du sang desséché
(Réactions de fixation du complément
et réactions de floculation).

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1940

PAR

Michel LEMELAND

Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
et de l'Hôpital de l'Institut Pasteur
Diplômé de Sérologie et de Bactériologie
de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. LUTZ, *Président.*
BACH, *Professeur.*
RÉGNIER, *Maître de Conférences.*

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1940

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱,  I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. ✱,  I. Membre de l'Institut.
H. J. LIONNET, *Secrétaire*,  I.

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. ✱,  I, Membre de l'Institut.	Pharmacie chimique.
GORIS, O. ✱,  I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, O. ✱,  I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱,  I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱,  I.	Chimie organique.
LUTZ, ✱,  I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱,  I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱,  I.	Zoologie.
DELABY, ✱,  I.	Chimie analytique.
PICON, ✱,  I.	Physique.
MASCRE, ✱,  I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱,  I.	Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱,  I. — GUÉRIN. O. ✱,  I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. ✱,  I, et DELÉPINE, O. ✱,  I, Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✱,  I, COUTIÈRE, O. ✱,  I, BOUGAULT, O. ✱,  I.
et TASSILLY, O. ✱,  I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

FLEURY,  I.	Hydrologie et Hygiène.
BEDEL, ✱,  I.	Minéralogie, Législation et
	Déontologie pharmaceutiques.
RÉGNIER,  I.	Bactériologie.
CHARONNAT,  I.	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT,  A.	Pharmacie galénique et biologie végétale.
VALETTE,  A.	Histoire naturelle.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE,  A, trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER,  A, trav. pratiq. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS.	Micrographie.
CORRIEZ,  A.	Physique.
GUILLOT.	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
DAVID, Chargé des travaux pratiques de Microbiologie.	

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER,  A.

A LA MÉMOIRE DE MON ONCLE

LE DOCTEUR JOSEPH LEMELAND

Ex-médecin accoucheur des Hôpitaux de Paris

A MA GRAND-MÈRE

A MES PARENTS

En témoignage de ma profonde affection

A MON FRÈRE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LUTZ

*Qui nous a fait le très grand honneur
d'accepter la présidence de cette thèse.*

*Témoignage de respectueuse reconnais-
sance.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BACH

*Qui nous a fait l'honneur de faire partie
du jury de notre thèse.*

*En témoignage de reconnaissance pour
son enseignement.*

A MONSIEUR J. RÉGNIER

Maitre de Conférences à la Faculté de Pharmacie

*Qui nous a toujours réservé le meilleur
accueil et nous a aidé de ses conseils
éclairés.*

*Témoignage de profonde et respectueuse
reconnaissance.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE DOCTEUR R. DEMANCHE

Ancien interne des Hôpitaux de Paris
Chef du Laboratoire central de Sérologie de l'Hôpital Cochin.

*Qui nous a guidé dans notre travail et
nous en a permis la réalisation.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre profond dévouement et de notre
vive et respectueuse reconnaissance.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SOMMELET

Pharmacien chef de l'Hôpital Cochin

En témoignage de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. GIRAND

Chef des travaux pratiques de l'Ecole de Sérologie.

Témoignage de vive gratitude.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE PRATIQUE DU SÉRO-DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

INTRODUCTION

Dans ce travail, nous ne reviendrons pas sur l'extraordinaire fortune dont jouissent les réactions de Bordet-Wassermann et celles qui en dérivent.

Leur spécificité n'est plus discutée et l'on peut dire que toute la thérapeutique moderne de la syphilis est dirigée par ces méthodes sérologiques.

Il n'en reste pas moins comme le faisait remarquer en 1932, Marcel Cormier (17) qu'une cause d'étonnement est la diversité des méthodes et des techniques.

A côté des divers types et des différentes modifications de la réaction de Bordet-Wassermann est né tout un ensemble de réactions plus simples et, en particulier, les réactions de floculation qui la plupart du temps se font conjointement à la réaction classique et parfois même sont seules exécutées. Malgré tous les essais déjà faits subsiste cependant toujours la question de savoir si les résultats donnés par ces dernières réactions sont absolument parallèles à ceux donnés par la réaction primitive classique.

Enfin sont nées, dans ces dernières années, des réactions qui prennent pour base non plus le sérum des malades, mais le sang desséché. Il est bien évident que l'utilisation de tels prélèvements, qui semblent être parfaitement conservables, peut donner aux techniques de sérologie une importance encore plus grande.

Ces méthodes qui utilisent le sang desséché ont été proposées surtout, et mises en pratique, en Allemagne. Ce sont des réactions de floculation qui, en somme sur ce prélèvement particulier, font jouer la réaction d'éclaircissement de Meinicke.

Pour nous durant notre internat en Pharmacie à l'Hôpital Cochin, nous avons eu la grande chance de travailler sous la direction de M. le Dr R. Demanche au Laboratoire central de Sérologie de l'Hôpital Cochin. Et sur les conseils de ce dernier, nous avons été conduits non seulement à décrire à nouveau et à comparer les méthodes bien établies qui partent du sérum, frais ou chauffé, mais surtout nous avons été conduits à étudier les techniques récentes, présentées dans les publications étrangères, qui utilisent le sang desséché. Pour ce but nous avons utilisé, soit comme en Allemagne les réactions de floculation, soit, et ce sera la partie principale de notre thèse, à la suite de M. le Dr Demanche, la réaction fondamentale de déviation du complément de Bordet-Wassermann.

On trouvera donc dans ce travail un premier chapitre où nous rappellerons l'historique des techniques sérologiques. Cet historique, maintes fois répété,

n'aura d'autre mérite que d'exposer de plus haut en raison du recul, dont nous profitons, non seulement les anciennes réactions mais aussi les réactions nouvelles dont nous avons parlé.

Notre deuxième chapitre décrira les réactions que nous avons utilisées : tout d'abord les réactions de fixation du complément qui s'appuient sur l'hémolyse, soit qu'elles s'adressent au sérum chauffé (Réactions de Bordet-Wassermann, de Calmette-Massol, de Demanche) soit qu'elles s'adressent au sérum frais (Réaction de Hecht), ensuite les principales réactions de floculation (Vernes, Meinicke, Kahn), et enfin les réactions prenant pour base le sang desséché (réaction de Chediak, Ko-Da-Guo, et application de la réaction de Bordet-Wassermann que nous proposons).

Le troisième chapitre présentera l'exposé de tous les essais que nous avons été amené à faire au laboratoire du D^r Demanche, et comparera, pour chacune des méthodes en cause, la proportion des résultats positifs, douteux et négatifs ; il présentera en regard des diagnostics médicaux les résultats, donnés par chacune des méthodes.

Réunissant finalement tous ces résultats nous en tirerons des conclusions sur la valeur comparée des différentes méthodes, insistant particulièrement sur la valeur de la réaction de Bordet-Wassermann avec sang desséché que nous avons proposée avec le D^r Demanche.

Avant d'entrer dans le vif du sujet nous voudrions exprimer toute notre reconnaissance à notre Maître

M. le D^r Demanche, ancien interne des Hôpitaux de Paris, chef du Laboratoire central de Sérologie de l'Hôpital Cochin. C'est grâce à lui que nous avons été initié à ces recherches si importantes au point de vue social et si passionnantes au point de vue scientifique. C'est grâce à lui que nous avons effectué un stage à l'Ecole de Sérologie de la Faculté de Médecine de Paris et c'est à lui que nous devons l'idée de ce travail. Nous désirons qu'il trouve ici l'expression de notre dévouement profond et respectueux.

Nous présentons à M. le Professeur Lutz le témoignage de notre respectueuse reconnaissance pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette thèse, et pour les conseils qu'il a bien voulu nous donner.

Nous remercions M. le Professeur D. Bach pour l'accueil qu'il a bien voulu réserver à nos travaux.

Nous adressons à M. Jean Régnier, Maître de Conférences, nos remerciements respectueux pour l'intérêt qu'il a porté à divers points de vue à cette thèse.

Nous serions bien ingrats si nous ne remercions pas M. le Professeur Sommelet, Pharmacien-chef de l'Hôpital Cochin de l'aide précieuse qu'il nous a toujours apportée dans notre vie d'interne et aussi dans l'élaboration de ce travail hospitalier.

Nous voudrions enfin marquer notre affectueuse reconnaissance à notre ami Edouard Illaire qui a bien voulu, pendant cette guerre et notre éloignement forcé des centres scientifiques, nous aider à la présen-

tation de ce travail. Nous tenons à l'en remercier bien vivement.

Qu'il nous soit permis de penser affectueusement à nos camarades qui ont assisté à l'élaboration de ce travail. Nous garderons toujours un souvenir ému des années que nous avons passées à l'Hôpital Cochin, en leur compagnie, et sous la direction de M. le Professeur Sommelet et de M. le Dr Demanche.

HISTORIQUE

C'est en 1906, que Wassermann et ses collaborateurs Neisser et Brück (70) eurent les premiers l'idée d'appliquer à la syphilis la méthode générale découverte en 1901, par Bordet et Gengou (8) pour la recherche des sensibilisatrices, qui se développent dans le sérum sanguin au cours des maladies infectieuses.

La réaction de Wassermann se rattache donc par l'intermédiaire de la réaction de Bordet et Gengou à l'étude du pouvoir bactéricide des humeurs.

Dès 1889, Büchner avait montré que dans le sang, c'est le sérum seul qui est bactéricide et il attribua son pouvoir à des substances albuminoïdes spéciales ne résistant pas à une température de $+ 55^{\circ}$ et auxquelles il donna le nom d'alexines. Ce pouvoir bactéricide qui existe dans les sérums normaux est exalté chez les sujets vaccinés.

C'est à Pfeiffer que revient le mérite de l'avoir mis en évidence, en injectant une culture de vibron cholérique dans le péritoine d'un cobaye vacciné, il montra que non seulement, les microbes ne provoquaient

pas la mort de l'animal, mais qu'ils subissaient toute une série d'altérations morphologiques : agglutination, fragmentation en granules, puis dissolution complète.

Ce phénomène de bactériolyse constitue le phénomène de Pfeiffer, 1894.

L'action dissolvante du sérum ne s'exerce pas seulement sur les microbes, mais se manifeste également sur les globules sanguins provenant d'un animal d'une espèce différente. Daremberg et Büchner étudièrent ce pouvoir globulicide et ils constatèrent qu'il disparaissait tout comme le pouvoir bactéricide par chauffage du sérum à $+ 55^{\circ}$ et Büchner l'attribua lui aussi aux alexines.

Par analogie Bordet (7) eut l'idée d'exalter chez un animal ce pouvoir globulicide du sérum en lui injectant des doses répétées et croissantes de globules rouges d'une autre espèce animale, mélangeant ensuite le sérum de l'animal préparé avec une certaine quantité de globules rouges de l'espèce animale utilisée, il constatait *in vitro* et à $+ 37^{\circ}$ qu'il produisait une hémolyse due à des hémolysines spécifiques.

Ces propriétés lytiques sont donc des propriétés générales acquises par le sérum sanguin par le fait de l'immunisation vis-à-vis des substances qui ont servi à l'immuniser et qui portent le nom d'antigènes.

Bordet (7) dans une longue série de travaux (1896-1900) établit que le pouvoir lytique est dû à un complexe et dépend de deux substances ou propriétés

distinctes du sérum : l'une est l'alexine ou complément, l'autre est appelée sensibilisatrice ou ambocepteur. Ce ne sont pas des corps chimiques à formule déterminée, mais des complexes colloïdaux. On les différencie par leurs propriétés physiques et biologiques. L'alexine est une substance thermolabile qui est détruite à la température de $+ 55^{\circ}$; la sensibilisatrice par contre est thermostable et résiste quand on chauffe le sérum spécifique à la température de $+ 55^{\circ}$. Toutes deux n'agissent sur les globules rouges qu'en association. C'est la sensibilisatrice qui est spécifique dans ce complexe ; elle se forme à la suite d'injections de globules rouges d'une espèce étrangère, alors que l'alexine existe dans presque tous les sérums frais. L'alexine est incapable de déterminer l'hémolyse à elle seule, il faut un fixateur qui est la sensibilisatrice ; celle-ci modifie la paroi globulaire de telle façon que cette paroi devient ensuite sensible à l'activité de l'alexine.

Bordet et Gengou (8) constatèrent que si l'on additionne *in vitro* un anticorps quelconque avec l'antigène correspondant, il se fait une combinaison colloïdale qui acquiert une propriété nouvelle celle de fixer l'alexine. Il y a donc là un moyen qui permettra de déceler dans un milieu quelconque soit l'antigène, soit l'anticorps.

La bactériolyse étant difficile à constater directement, Bordet et Gengou (8) eurent recours à un artifice. Ils engagèrent le complément dans une deuxième réaction dont le résultat était facilement visible : la

réaction d'hémolyse. L'hémolyse se produira ou ne se produira pas suivant que le complément est libre ou a été fixé sur l'antigène de la première réaction. C'est pourquoi la réaction de Bordet et Gengou porte encore le nom de réaction de fixation du complément.

Elle peut se résumer dans les deux schémas suivants :

I. *Réaction positive = pas d'hémolyse.*

[Antigène	Complément]	Hématies
Sérum spécifique		Sérum hémolytique

II. *Réaction négative = hémolyse.*

Antigène	[Complément	Hématies
Sérum non spécifique		Sérum hémolytique]

Rapidement utilisée comme moyen de diagnostic dans un grand nombre de maladies infectieuses et parasitaires la réaction de fixation du complément s'est surtout vulgarisée dans son application à la syphilis.

Dès 1903, Metchnikoff et Roux avaient démontré l'inoculabilité du virus syphilitique aux singes anthropoïdes et en 1905, Schaudinn et Hoffmann découvraient son agent pathogène, *treponema pallidum*.

C'est alors que Wassermann pensa à utiliser la réaction de Bordet et Gengou pour déceler dans le sérum sanguin des malades, les anticorps correspondant à l'agent infectieux, mais la difficulté résidait dans le fait qu'on ne pouvait réaliser des cultures de tréponèmes.

En 1905, Wassermann et Brück montraient que les cultures microbiennes pouvaient être remplacées par leurs extraits aqueux, comme antigène, dans la réaction de fixation du complément.

Avec Neisser ils eurent l'idée d'employer à défaut de cultures ou d'extraits de cultures, dans la réaction de fixation, des extraits d'un organe riche en tréponèmes. Ils s'adressèrent au foie d'hérédo-syphilitique et réalisèrent un extrait aqueux, qui leur permit d'effectuer la réaction de Bordet et Gengou sur les sérums syphilitiques (10 mai 1906). Les résultats obtenus furent encourageants et la réaction de Wassermann fut étudiée dans son principe et dans sa nature. Wassermann avait présenté sa réaction comme une véritable réaction de fixation du complément, mais bientôt des objections s'élevèrent et sa spécificité fut mise en doute.

En 1907, Levaditi et Marie (48) montrent qu'on peut remplacer pour l'exécution de la réaction de Wassermann les extraits d'un organe syphilitique par des extraits d'organes normaux en particulier par des extraits de foie et de cœur. La même année (42-43) Landsteiner, Porges, Levaditi et Yamanouchi (49) démontrent en outre que la substance active à laquelle l'antigène doit ses propriétés est soluble dans l'alcool à la différence des véritables antigènes microbiens et qu'elle est de nature lipoidique. Tous les lipoides contenus dans les organes n'ont pas la même valeur et Noguchi (55) eut le mérite en 1909, d'indiquer que ceux qui sont solubles dans l'éther et dans l'acétone

ont une action anticomplémentaire. Sachs et Rondoni (60) en Allemagne, Desmoulière (25) en France, proposèrent des formules d'antigènes artificiels qui donnèrent des résultats encourageants mais peu spécifiques. Malgré toutes les critiques dont elle fut l'objet de la part des chercheurs, la réaction de Wassermann vit sa valeur pratique confirmée et son emploi se généralisa ; elle bénéficia de nouvelles améliorations techniques qui la rendirent plus sensible, plus précise, plus spécifique et plus simple à exécuter : méthode simplifiée de Hecht (35) (1909), antigènes purifiés de Noguchi (1909), méthode quantitative de Calmette et Massol (14) (1911). Elle fut considérée non plus comme une réaction d'immunité, mais comme un phénomène physico-chimique. Il s'agirait d'un changement physico-chimique des albumines du sérum qui provoquerait une précipitation des lipoides contenus dans l'antigène ; ce changement n'est pas spécifique, mais cependant assez caractéristique pour permettre le diagnostic de la syphilis ; la fraction de ces albumines vraisemblablement des globulines qui réagissent avec les lipoides fut désignée sous le terme vague de réagine. Cependant les recherches expérimentales qui sont en cours à l'Institut Fournier semblent aboutir à la conclusion que la réagine syphilitique n'est pas identique à la globuline, ni aux matières protéiques.

On a pu précipiter cette substance par une centrifugation intense ; mais si on réalise des ultracentrifugations sélectives on a constaté que les courbes de

sédimentation de la réagine et de la globuline ne sont pas identiques et ne se superposent pas; elles s'écartent au contraire suivant le nombre de tours et le temps de centrifugation.

Du jour où l'on sut qu'un phénomène de floculation était à la base de la réaction de Wassermann, de nombreux auteurs pensèrent à utiliser ce phénomène pour faire le diagnostic de la syphilis. La floculation des sérums normaux sous l'action de réactifs variés était connue depuis longtemps et l'on rechercha à utiliser dans la pratique l'instabilité plus grande que représentaient les sérums syphilitiques.

Dès 1907, Fornet et Schereschewsky les premiers utilisant l'antigène de Wassermann essayèrent de leur appliquer cette découverte qui fut encore confirmée l'année suivante par Klausner, Sachs et Altmann (61). Porges et ses élèves dans leurs recherches essayèrent de substituer aux extraits d'organes certains corps chimiquement définis, à l'état de suspension colloïdale. En 1909, Jacobsthal (36) constata à l'ultramicroscope la formation de granulations dans les mélanges de sérums syphilitiques et d'extrait alcoolique de foie. Teruuchi et Toyoda (1910), Brück (11) et Hidaka (1911) confirmèrent tous ces travaux, mais ils ne purent trouver une méthode de préparation d'un antigène permettant de faire entrer ces antigènes dans la pratique courante.

Ce n'est qu'en 1917-1918 que la mise au point des réactions de floculation put être faite et grâce aux travaux de Meinicke (50) et Sachs-Georgi (34) (1917-

1921) en Allemagne, de Vernes (66) (1918-1921) en France, elles purent être utilisées pratiquement pour le séro-diagnostic de la syphilis.

Depuis cette époque les réactions de floculation ne cessèrent de se perfectionner en particulier par l'emploi de teintures de résines Dold (26) (1921-1922) ; celles-ci ajoutées à l'antigène donnent une suspension colloïdale plus grossière dont la floculation est plus rapide et plus visible. La dernière étape fut marquée par l'emploi d'antigènes cholestérinés concentrés qui donna naissance aux réactions de Kahn (37) (1924-1928) de Sachs Witebsky (62) et de Muller (1928) (52). Enfin à ces méthodes qui sont pratiquées sur le sérum sanguin vinrent s'ajouter grâce à la perfection des réactions de floculation les réactions de Chediak (1932) (16) et de Ko-Da Guo (1938) (40) qui permettent de réaliser le séro-diagnostic de la syphilis sur le sang sec.

II. — DESCRIPTION DES RÉACTIONS UTILISÉES

Le séro-diagnostic de la syphilis peut être fait par de nombreuses méthodes que l'on peut ranger en deux grands groupes également importants :

— Les réactions de fixation du complément ou réactions d'hémolyse : type réactions de Bordet-Wassermann, de Calmette-Massol, de Demanche, de Hecht.

— Les réactions de floculation : type réactions de Meinicke de Kahn.

Toutes ces méthodes reposent sur le même principe : tout sérum syphilitique a la propriété de former un complexe avec un certain réactif appelé antigène et qui est constitué par une suspension colloïdale de lipoides organiques dans une solution à 9‰ de chlorure de sodium. Si le mécanisme interne reste le même pour les deux groupes de réaction leur manifestation extérieure diffère. La formation du complexe, sérum syphilitique + antigène, peut produire deux effets différents : soit une précipitation ou floculation du colloïde antigène directement décelable ou bien

un phénomène non visible que l'on met en évidence par un artifice, qui consiste dans la fixation ou adsorption d'un des constituants fonctionnels du sérum sanguin, le complément :

Sérum syphilitique + antigène ;

A) Fixation du complément,

B) Flocculation.

A. — RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT OU D'HÉMOLYSE

La technique de Wassermann (69) primitive a subi très vite de nombreuses modifications qui furent présentées par leurs auteurs comme des méthodes nouvelles ; en plus de la réaction de Wassermann classique nous décrirons les réactions de déviation du complément que nous avons employées pour contrôler les réactions sérologiques des malades pour lesquels nous avons fait un séro-diagnostic de la syphilis sur le sang desséché. Parmi les réactions d'hémolyse utilisées il convient de faire une première distinction suivant que le sérum du malade a été inactivé par chauffage à $+ 56^{\circ}$ ou qu'il est employé tel quel au sortir de la veine :

Méthodes au sérum chauffé.

Méthodes au sérum frais.

Chacune de ces deux méthodes comporte l'intervention de deux facteurs :

D'abord un réactif qui est constitué par l'antigène et le complément, ensuite un indicateur qui est représenté par les globules rouges et l'hémolysine.

Toutes ces réactions se font en deux temps : le sérum suspect est mis en contact avec le réactif, c'est le temps de fixation et après on ajoute l'indicateur, c'est le temps d'hémolyse. Le sérum suspect, l'antigène, le complément, l'hémolysine et les globules rouges sont donc les cinq éléments qui interviennent toujours dans ces deux réactions.

TECHNIQUE DES RÉACTIONS D'HÉMOLYSE

Méthode au sérum chauffé.

1^o RÉACTION DE WASSERMANN CLASSIQUE.

Quels sont les éléments qui nous seront nécessaires pour effectuer cette réaction ?

Nous utiliserons le sérum du sujet suspect dont on veut faire le diagnostic, sérum préalablement chauffé à 56° de manière à supprimer ses propriétés *alexiques normales*. Au début, on se servait comme antigène d'un extrait aqueux de foie d'hérédosyphilitique, maintenant on emploie un extrait alcoolique d'organes normaux, soit cœur, soit foie, préalablement titré afin de mesurer son action.

L'alexine ou complément qui est une substance labile est fournie par du sérum frais de cobaye conservé au maximum 3 ou 4 jours en glacière, ou que

l'on peut conserver plus longtemps en solution salée hypertonique suivant le procédé Ronchèse (58). Le complément est employé dilué à 50 %.

Le sérum hémolytique est constitué par la sensibilisatrice du sérum de lapin, traité au préalable avec des globules rouges de mouton et dont on supprime l'alexine par chauffage à 56°.

Les globules rouges sont des globules rouges de mouton lavés et utilisés à la dilution de 5 % avec une solution de chlorure de sodium à 9‰.

Enfin, on utilise une solution à 9 ‰ de chlorure de sodium que l'on ajoutera en quantité adéquate pour que le mélange final dans chaque tube ait un volume de 3 cc.

La réaction de Wassermann est caractérisée par l'emploi de trois doses croissantes d'antigène dilué au 1/20 avec une quantité fixe de complément et de sérum suspect.

Elle comporte donc 3 tubes pour la réaction auxquels on ajoutera 6 tubes qui serviront de témoins conformément au tableau I.

Les tubes 1, 2 et 3 sont les tubes de réaction dans lesquels on met en présence le sérum suspect, l'antigène et le complément.

Le tube n° 4 est le témoin du sérum suspect et a pour but de vérifier qu'il n'est pas anti-hémolytique par lui-même, en l'absence d'antigène et il devra être répété pour chaque réaction.

Les tubes 5, 6 et 7 sont les témoins de l'antigène et permettent de vérifier qu'il n'est pas anticomplé-

mentaire et n'empêche pas l'hémolyse de se faire en l'absence de sérum suspect. Le tube 8 sert de témoin au système hémolytique et c'est lui qui montre en général le premier une hémolyse complète.

TABEAU I.
RÉACTION DE WASSERMANN

Numéros des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Antigène au 1/20..	cc 0,1	cc 0,2	cc 0,3	cc »	cc 0,1	cc 0,2	cc 0,3	cc »	cc »
Sérum suspect inactivé.....	0,2	0,2	0,2	0,2	»	»	»	»	»
Complément titré.	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	»
Eau salée à 9 ‰.	1,5	1,4	1,3	1,6	1,7	1,6	1,5	1,8	2
Une heure à l'étuve à 37°.									
Sérum hémolyti- que titré.....	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	»
Globules rouges à 5 ‰	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Une demi-heure à l'étuve à 37°.									

Le tube 9 permet de contrôler la résistance des globules rouges et l'isotonie du milieu.

Les cinq derniers tubes ne contenant pas de sérum suspect n'ont pas besoin d'être répétés pour chaque réaction.

L'expérience terminée on doit constater pour qu'elle soit valable une hémolyse totale dans les tubes 4, 5, 6, 7 et 8 et une absence d'hémolyse dans le tube 9.

Quant à l'aspect des tubes 1, 2, et 3 il varie suivant la nature du sérum examiné.

Si l'hémolyse est totale dans ces tubes la réaction est dite négative ; elle est positive quand les trois premiers tubes ont un aspect trouble et positive partielle quand l'hémolyse va en décroissant régulièrement du tube 1 au tube 3.

2° RÉACTION DE CALMETTE ET MASSOL (14).

Les éléments qui entrent dans cette réaction sont les mêmes que ceux utilisés pour la réaction de Wassermann.

Le principe de la méthode consiste à mettre en présence de quantités croissantes de complément très exactement titré, d'une part le mélange du sérum suspect et de l'antigène employés à doses fixes, d'autre part ce sérum seul et l'antigène seul employés aux mêmes doses afin de tenir compte pour l'appréciation finale du résultat de leurs pouvoirs anti-complémentaires.

Cette méthode est caractérisée par l'emploi de très petites quantités d'alexine compensées par une hémolyse très active ; d'autre part la quantité de globules rouges à 5 % est moitié moindre que celle employée dans la réaction de Wassermann.

La sensibilité de cette réaction est assurée par un titrage préalable très précis de l'alexine qui a pour but de déterminer la dose minima d'alexine nécessaire à l'hémolyse.

Elle présente certains avantages qui sont les suivants :

L'emploi d'un grand excès de sérum hémolytique

permet de négliger les hémolysines naturelles que renferment en plus ou moins grande quantité les sérums humains.

La détermination précise de la dose minima d'alexine permet de déceler le moindre pouvoir fixateur du sérum syphilitique.

La mesure respective du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène et du sérum examiné évite l'erreur qui consisterait à prendre pour un résultat positif l'absence d'hémolyse qui serait due à l'addition des actions empêchantes partielles.

Enfin l'appréciation du nombre d'unités alexiques fixées permet d'évaluer la richesse du sérum du malade en anticorps. C'est une méthode précise et sûre et elle permet dans une certaine mesure d'apprécier l'intensité de la réaction d'après la quantité de complément fixée.

Exécution de la réaction.

Elle comporte 4 tubes à réaction et 6 tubes témoins : 3 pour le sérum, 3 pour l'antigène.

La lecture est faite au sortir de l'étuve de la façon suivante :

« La réaction est positive si le volume d'alexine dévié par le mélange sérum-antigène est supérieur à la somme des volumes déviés par le sérum et l'antigène séparément » (Calmette et Massol) : son intensité se mesure par le nombre d'unités d'alexine fixées spécifiquement. En pratique, l'antigène ne doit pas fixer d'alexine et il suffit de déduire les unités d'alexine fixées par le sérum.

TABLEAU II.

RÉACTION DE CALMETTE ET MASSOL

Numéros des tubes	Réaction				Témoins sérums			Témoins antigènes		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Antigène.....	cc 0,2	cc 0,2	cc 0,2	cc 0,2	cc »	cc »	cc »	cc 0,2	cc 0,2	cc 0,2
Sérum suspect inactivé .	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	»	»	»
Alexine titrée à 2 unités par 0 cc. 1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3
Eau salée à 9 ‰.....	1,9	1,8	1,7	1,6	2,1	2	1,9	2,2	2,1	2
Une heure à l'étuve à 37°.										
Sérum hémolytique à 10 unités par 0 cc. 1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
Globules rouges à 5 % ..	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
1/2 heure à l'étuve à 37°.										

3° RÉACTION DE DEMANCHE.

La méthode classique de Wassermann est sujette à plusieurs causes d'erreur qui diminuent sa sensibilité. Dans la réaction qu'il élaborait en 1934, M. Demanche (18-19-20-21-22-23-24) s'efforça de remédier à ces inconvénients.

Cet auteur introduit le sérum suspect à une dose très réduite par rapport au volume du sang de mouton (1/12 au lieu de 1/5), afin que son action propre hémolytique, anti-complémentaire ou parfois agglutinante soit négligeable par rapport à celle de l'ambocepteur artificiel ; la sensibilité de la réaction ne sera pas diminuée car la quantité d'antigène mise en œuvre sera proportionnée à la quantité de sérum.

L'antigène sera exactement titré au point de vue de son action anticomplémentaire et de sa sensibilité par la recherche de la dose optima.

Enfin, l'activité du complexe hémolytique sera contrôlée par deux témoins contenant l'un une dose d'ambocepteur insuffisante pour produire l'hémolyse complète, l'autre une dose nettement suffisante : chaque réaction est donc encadrée entre deux limites d'activité hémolytique qui permettent de serrer au plus près le titrage de l'ambocepteur et dont l'écart qui ne dépasse jamais 4 unités mesure le degré de précision de l'expérience.

Cette méthode du Dr Demanche présente également de gros avantages pratiques car elle est réglée de telle sorte qu'elle simplifie énormément les manipulations et permet de faire des réactions en grande série :

— les antigènes des tubes de réaction et l'eau physiologique des tubes témoins sont activés d'avance par mélange à parties égales avec le complément dilué ;

— la suspension globulaire est sensibilisée au moyen d'un très petit volume d'ambocepteur concentré qui ne modifie pas sensiblement sa concentration primitive.

Toutes les distributions en dehors de la distribution du sérum sont réduites à deux et sont faites sous un volume uniforme de 0,6 avec un seul rhéomètre ce

qui supprime toutes les erreurs de mesure à la pipette et assure également un brassage parfait.

La fixation a lieu simplement sur la table du laboratoire.

ÉLÉMENTS DE LA RÉACTION :

Antigène : c'est un extrait de poudre de cœur de bœuf préalablement épuisé à l'éther. Deux extraits l'un simple, l'autre cholestériné à 0,30 % sont employés simultanément et permettent d'obtenir deux degrés différents de sensibilité. Ils sont dilués pour l'emploi à 1/200.

Complément : il est utilisé au 1/20.

Globules rouges de mouton : on emploie une suspension à 5 %.

Sérum hémolytique : il doit être le plus actif possible et il faut l'employer en solution assez concentrée pour qu'un très petit volume suffise à sensibiliser la suspension globulaire ; il ne doit pas dépasser 1/100^e du volume de la suspension ce qui permet de négliger la dilution qu'il apporte à celle-ci.

Le titrage de l'ambocepteur consiste à déterminer le taux auquel il faudra diluer le sérum hémolytique. Il sera exécuté dans les conditions mêmes de la réaction, c'est-à-dire en présence de la quantité exacte de complément qui sera utilisée ; le taux de la dilution la plus étendue de sérum hémolytique qui donne l'hémolyse complète représente le titre de l'ambocepteur.

Exécution de la réaction.

Epreuve préliminaire : titrage du complexe hémolytique.

Cette épreuve n'est pas comme les autres réactions un ajustement du complément à une dose fixe d'ambocepteur plus ou moins riche en unités hémolytiques, mais un ajustement de la dose de sérum hémolytique titré à une unité au complément du jour employé à dose fixe. Elle est faite dans deux séries de tubes, la réaction utilisant deux antigènes.

Ce titrage permet de déterminer la dose maxima insuffisante d'ambocepteur qui produit au plus une ébauche d'hémolyse et la dose minima active qui donne une hémolyse totale.

Réaction.

Chaque sérum nécessite l'emploi de 4 tubes : au centre 2 tubes de réaction pour l'antigène simple (II) et pour l'antigène cholestériné (III) les deux tubes extérieurs représentent l'un (I) la limite inférieure d'activité hémolytique du système, l'autre (IV) sa limite supérieure.

On ajoutera à la fin de la série 2 tubes témoins pour les antigènes.

Lecture : on devra surveiller les témoins de 10 en 10 minutes et retirer les supports de bain-marie dès que l'hémolyse est complète dans les témoins antigènes et dans les tubes IV ; l'hémolyse dans le tube IV garantit la valeur des réactions positives, l'absence d'hémolyse dans le tube I celle des réactions négatives.

TABLEAU III.
RÉACTION DE WASSERMANN
(MODIFICATION DU D^r DEMANCHE.)

Numéros des tubes	Réaction				Témoins antigènes	
	1	2	3	4	5	6
Sérum suspect inactivé ...	cc 0,05	cc 0,05	cc 0,05	cc 0,05	cc	cc
Antigène activé {		0,6	0,6		0,6	0,6
Eau physiologique activée.	0,6			0,6		
45 minutes à la température du laboratoire.						
Globules sensibilisés :						
faiblement	0,6					
fortement.....		0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
20 minutes au bain-marie à 37°.						

L'intensité des réactions positives s'apprécie très bien à l'examen direct d'après l'opacité des tubes à réaction ; on en distinguera trois degrés qu'on notera séparément pour chaque antigène.

Réaction fortement positive.... +++

Réaction partiellement positive. ++ et +

Réaction suspecte..... ±

Les réactions à l'antigène cholestériné sont presque toujours les plus sensibles surtout dans les syphilis anciennes latentes et dans les syphilis nerveuses.

Méthode au sérum frais.

RÉACTION DE HECHT.

Toujours dans le but de simplifier la réaction de Wassermann on a pensé à utiliser l'alexine et la sensibilisatrice qui existaient dans le sérum humain normal et dès 1909 Hecht (35) utilisant du sérum frais réalisa sa méthode.

Celle-ci consistait à mélanger dans deux tubes 0.1 et 0.2 de sérum suspect avec une quantité fixe d'antigène, puis après une heure de séjour à l'étuve à ajouter les globules de mouton ; un 3^e tube servant de témoin ne recevait que le sérum suspect et les globules rouges et l'on reportait le tout à l'étuve.

Cette réaction est par conséquent très simple, mais une grave cause d'erreur est due à la variabilité du pouvoir hémolytique des sérums humains.

Il est donc indispensable de faire un titrage préliminaire du pouvoir hémolytique du sérum examiné afin de régler la sensibilité du réactif indicateur que constitue le système hémolytique.

Des nombreuses méthodes proposées nous ne décrirons que la méthode de Mutermilch (53) qui est pratiquée à l'Institut Pasteur de Paris.

Cette méthode comprend deux temps : détermination de l'index hémolytique et réaction proprement dite. Elle comporte 3 tubes pour le titrage et 3 tubes pour la réaction.

La détermination de l'index hémolytique se fait

pendant le premier temps de la réaction ; elle consiste à mettre en présence d'une même quantité de sérum trois doses croissantes de globules rouges à 5 %. Après un séjour d'une heure et demie à l'étuve à 37° on note la quantité maxima de globules dissous par le sérum et on ajoute à chacun des tubes de réaction un tiers seulement de cette quantité pour compenser l'affaiblissement que subit le pouvoir alexique du sérum pendant son séjour à l'étuve.

TABLEAU IV.
RÉACTION DE MUTERMILCH
AVEC DÉTERMINATION DE L'INDEX HÉMOLYTIQUE.

Numéros des tubes	A. Titrage			B. Réaction		
	1	2	3	1	2	3
	cc	cc	cc	cc	cc	cc
Sérum suspect.....	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Globules rouges à 5 %	0,3	0,6	0,9			
Antigène à 1/20.....				0,1	0,2	
Eau salée à 9 ‰				0,2	0,1	0,3
Une heure et demie à l'étuve à 37°.						
Globules rouges à 5 % ...	1/3 de la dose maxima dissoute en A 30 à 40 minutes à + 37°					

(B) RÉACTIONS DE FLOCCULATION

Ces réactions s'apparentent de très près aux réactions de fixation du complément et c'est par un phénomène électro-colloïdal que s'explique la formation du complexe : globuline syphilitique, lipoides orga-

niques) dont le phénomène initial est la tendance à la floculation.

Il existe un très grand nombre de réactions de floculation qui présentent toutes une très grande simplicité de réalisation. Il suffit en effet de mélanger suivant des proportions déterminées le sérum suspect avec l'antigène préalablement dilué sous forme d'une suspension colloïdale ; la formation du flocculat est constatée directement ; il est nécessaire cependant de se conformer strictement aux techniques prescrites par les différents auteurs des méthodes employées (préparation de l'antigène, durée de contact, lecture), si l'on ne veut pas commettre de grossières erreurs.

1^o RÉACTION DE VERNES.

Vernes (66-67) a pu établir une technique très précise pour la différenciation des sérums syphilitiques. Il a créé une instrumentation ingénieuse permettant de réaliser sa méthode facilement et avec une grande rigueur scientifique.

Cette méthode utilise du sérum chauffé à $+ 55^{\circ}$ pendant 30 minutes.

Préparation de la suspension Fine. — Dans un verre cylindrique à fond plat de 40 millimètres de diamètre et contenant 12 cc d'eau distillée, faire descendre de manière qu'elle soit entièrement couverte d'eau sans toucher le fond, l'hélice en verre de 35 millimètres de diamètre de l'appareil mélangeur électrique et

faire tourner en agissant sur le rhéostat et en contrôlant la vitesse avec un compte-tours, à 200 tours à la minute.

Ajouter 6 cc de péréthynol au moyen d'une pipette à vitesse d'écoulement constante réglée au débit de 1 cc en une minute. Verser enfin, en filet mince 2 cc d'eau bi-distillée de manière à obtenir une dilution totale à 1/6,5. Alors seulement arrêter l'agitateur. Toute cette manipulation doit être faite à la température de + 18° à + 20° ; la dilution doit être employée dans les deux heures qui suivent.

Le Péréthynol est un extrait alcoolique de cœur de cheval préalablement épuisé par le perchlorure d'éthylène.

Technique de la Réaction. — Dans deux tubes distribuer 0 cc 8 de sérum du malade par tube ; dans le premier on ajoutera 0 cc 4 de la suspension de péréthynol, dans le second qui est le témoin 0 cc 4 d'eau bi-distillée alcoolisée à raison de 2 cc d'alcool absolu pour 11 cc d'eau. Agiter soigneusement et après bouchage des tubes au caoutchouc, les mettre pendant 4 heures dans un bain-marie à 25°.

Lecture des résultats : la floculation se manifeste par un trouble perceptible le plus souvent à l'œil nu. On le mesurera par la différence de densité optique déterminée au photomètre entre le tube témoin et le tube de réaction. La différence entre les deux chiffres obtenus donne le degré de floculation.

Interprétation des résultats : le photomètre permet

d'évaluer par la simple lecture d'une échelle graduée de 0 à 250 la quantité de lumière absorbée par le liquide interposé.

Le sérum normal donne un degré photométrique de 0 à 4, entre 4 et 6 on peut encore exceptionnellement trouver des sérums normaux. Pour avoir une certitude absolue de syphilis après un seul examen de sang il faut trouver au moins le chiffre 20. Dans les cas douteux on ne pourra tirer une conclusion qu'en faisant la comparaison de plusieurs examens successifs ; le sérum syphilitique donne en effet une courbe oscillante, tandis que le tracé du sérum normal reste en plateau.

2° RÉACTION DE CLARIFICATION DE MEINICKE (MEINICKE KLARUNGS REAKTION : MKR^{II}).

De nombreuses réactions réalisées par Meinicke (5) nous n'avons retenu que la réaction de clarification qui fut créée en 1929 et qu'il perfectionna à plusieurs reprises. Nous décrirons sa technique la plus récente ; MKR^{II} qui date de 1932. La multiplicité des procédés de lecture et l'emploi de deux suspensions colloïdales de sensibilité différente permet de saisir tous les degrés de réactivité des sérums.

Préparation de la suspension colloïdale : l'antigène de Meinicke est un extrait alcoolique de cœur de bœuf épuisé préalablement par l'éther, additionné de teinture de tolu et coloré au bleu Victoria.

Pour la dilution on utilise une solution de chlorure

de sodium à 3, 5 % on prépare deux suspensions, la première est de l'eau salée neutre, la seconde est alcalinisée avec 0,01 pour 100 de carbonate de soude (99 cc d'eau salée à 3,5 % + 1 cc d'une solution au 1/100^e de carbonate de soude anhydre dans l'eau salée à 3,5 %). Dans deux tubes à essai on introduit respectivement un volume d'extrait et 10 volumes de liquide dilution. On les plonge dans un bain-marie à + 56° et quand l'égalité des températures est réalisée, on verse d'un seul coup et sans agiter l'eau salée sur l'extrait, on transvase une seconde fois le mélange et on porte 2 minutes au bain-marie à + 56° les suspensions pour les mûrir. L'alcalinisation a pour effet de stabiliser la suspension colloïdale et de diminuer la sensibilité de la réaction ; la suspension alcaline devra donc être employée pour l'examen des sérums hyperpositifs, l'autre convenant pour les sérums moyennement ou faiblement positifs.

Exécution de la réaction. — Dans les deux cas la technique est la même avec la seule différence que l'on emploie 0 cc 2 de sérum frais suspect pour les réactions faites avec suspension neutre et 0 cc 1 seulement avec la suspension alcaline. De plus la suspension alcaline ne subit pas le mûrissement supplémentaire de 2 minutes. Pour les deux réactions on ajoute au sérum 0 cc 5 de la suspension colloïdale et on agite. Comme tube témoin on ajoutera un tube contenant 0 cc 5 de la suspension sans sérum qui devra toujours présenter une floculation positive.

Lecture des résultats : les procédés de lecture sont au nombre de trois :

a) Lecture précoce au microscope. Dans chaque tube bien agité on plonge aussitôt une pipette capillaire et l'on prélève une goutte que l'on dépose sur une lame porte-objet. La lame est placée dans une chambre humide pendant une heure ; ensuite on examine la goutte directement au microscope à l'objectif 3. Réactions négatives (—) : le champ apparaît gris-jaunâtre un peu plus foncé au centre et ponctué uniformément de fines granulations. Réactions fortement positives (+++) : on voit de gros flocons opaques brun-noirâtres réunis en amas, affectant des dispositions variées et séparés par des espaces clairs dépourvus de granulations.

Dans les réactions faiblement positives (++ et +) les flocons sont plus fins, moins opaques et les espaces intermédiaires moins clairs. Enfin, dans quelques cas le champ est semé de granulations inégales et irrégulières sans éclaircissement ; ce sont les réactions douteuses ($\pm$) ; une deuxième lecture pourrait être faite une heure après, mais elle peut être sujette à des causes d'erreurs ;

b) lecture à la loupe (facultative). Elle se fait au bout d'une heure et demie dans une chambre noire en tenant le tube incliné et à égale distance entre les yeux et une source électrique. On examine les bords de la lame liquide avec une loupe grossissant 4 fois ;

lecture tardive par clarification.

Elle se fait au bout de 16 à 24 heures par examen direct des tubes devant une fenêtre.

Réactions négatives (—) le liquide reste trouble avec quelquefois une sédimentation légère dont on ne tient pas compte.

Réactions positives fortes : (+++) il est complètement décoloré, clair et il y a au fond du tube un sédiment bleuâtre.

Réactions faiblement positives (++ et +) il est plus ou moins éclairci, mais reste toujours opalin et le sédiment n'est pas aggloméré.

Enfin, dans quelques cas l'éclaircissement est si faible que la réaction est dite douteuse ($\pm$).

Remarque. — Il existe encore une autre méthode de lecture très sensible et très rapide et qui consiste à centrifuger 10 minutes à 2.000 tours les tubes à réactions. On rejette ensuite le liquide surnageant éclairci et les tubes étant mis à l'envers dans un porte-tube on examine le culot au bout d'une demi-heure.

Dans les réactions négatives le culot s'écoule en bavant le long des parois, dans les réactions fortement positives il reste intact à contours bien nets ; enfin, dans les réactions faiblement positives il a perdu son contour net, il s'est simplement élargi sans couler sur les parois.

3^e RÉACTION DE KAHN.

La réaction de Kahn (37) est une méthode extrêmement simple et rapide à réaliser, très sensible et

qui vient en tête de toutes les méthodes présentées aux dernières conférences sérologiques. Elle est le type des réactions à antigène cholestériné concentré ; la floculation sous forme de granulations dispersées nettement visibles est favorisée et accélérée par l'action mécanique de l'agitation. Elle comprend deux variétés ne différant entre elles que par la composition de l'antigène : la réaction Standard qui est la réaction classique et la réaction présomptive qui est la plus sensible, mais qui est moins spécifique.

L'antigène utilisé est un extrait alcoolique de poudre de cœur de bœuf préalablement épuisée à l'éther et renfermant 0,6 % de cholestérine. Il est soigneusement titré.

Il est préférable d'inactiver le sérum suspect ce qui augmente la sensibilité de la réaction.

Technique. — La réaction Standard comporte 3 tubes.

Préparation de l'antigène : on mélange l'extrait alcoolique et l'eau salée à 9 ‰ dans les proportions déterminées. Le mélange se fait dans de petits tubes à fond plat et en ayant soin de verser d'abord l'eau salée sur l'antigène, puis on transvase rapidement 6 ou 7 fois.

On laissera la suspension mûrir pendant 10 minutes sans toutefois dépasser une demi-heure.

Agiter la suspension colloïdale et la répartir à raison de 0 cc 05, 0 cc 025 et 0 cc 0125 ; les sérums sont distribués à raison de 0 cc 15 pour chacun des trois tubes. On soumet les tubes à l'agitation 3 minutes au

rythme de 275 oscillations par minute. On ajoute alors 1 cc d'eau salée dans le premier tube et 0 cc 5 dans le 2^e et 3^e tubes. On agite et on procède rapidement à la lecture ; celle-ci se fait à l'aide d'un miroir concave, le tube étant incliné presque horizontalement de manière à voir son image réfléchie et grossie et à examiner une mince couche de liquide.

Les réactions négatives sont indiquées par la transparence du liquide.

Les réactions positives sont divisées en plusieurs degrés de positivité :

- ++++ nombreuses grosses granulations suspendues dans un liquide très clair et visibles à l'œil nu,
- +++ nombreuses granulations dans un liquide clair et visibles à l'œil nu,
- ++ fines granulations facilement distinctes avec l'appareil grossissant,
- + très fines granulations visibles après grossissement, liquide louche,
- ± granulations à peine visibles ; aspect louche du liquide.

On note séparément pour chaque tube le résultat obtenu et on en fait la moyenne en comptant les résultats douteux (±) comme négatifs et en ajoutant une croix lorsque le reste de la division est supérieur à 1.

Réaction présomptive.

Elle ne diffère de la réaction que par l'antigène qui

est sensibilisé par l'addition de certains lipoïdes éthéro-solubles et son titre diffère.

Pour exécuter la réaction on emploie qu'une seule dose d'antigène la dose moyenne 0 cc 025 et 0 cc. 15 de sérum inactivé.

Les autres temps de la réaction sont les mêmes que pour la réaction Standard.

C) RÉACTIONS SUR LE SANG DESSÉCHÉ

1^o RÉACTION DE CHÉDIAK.

Les nombreuses méthodes nouvelles qui furent présentées depuis la réalisation du séro-diagnostic de la syphilis par Wassermann tendent toutes à augmenter la précision et la sensibilité des réactions et à simplifier leur technique ; à ce point de vue les réactions de floculations firent faire un réel progrès à la sérologie d'autant qu'elles se pratiquent sur une faible quantité de sérum humain ; c'est grâce à ces méthodes que l'on put envisager et réaliser un séro-diagnostic de la syphilis sur le sang desséché.

Les premiers essais furent faits, dès 1932, par un sérologiste de La Havane Chédiak (16) dont la méthode fut définitivement mise au point ces dernières années ; nous avons expérimenté cette méthode en la faisant bénéficier de quelques améliorations proposées par M. Demanche.

Prélèvement. — Sur une lame de verre, après une simple piqûre faite à l'extrémité du doigt ou au lobule

de l'oreille, on recueille une goutte de sang. Chédiak (16) recommande de défibriner aussitôt par agitation avec le vaccinostyle ayant servi à faire le prélèvement ou avec un coin d'une lame à prélèvement, puis de laisser sécher le sang. Nous préférons porter la lame sur laquelle nous avons recueilli la goutte de sang dans une chambre humide afin de la laisser coaguler en évitant la dessiccation sur les bords. Au bout de 10 à 15 minutes (on peut attendre sans inconvénient un laps de temps plus grand) on enlève avec une pince flambée ou une aiguille de platine le petit caillot qui s'est formé. Il ne reste plus qu'une goutte de sérum avec quelques globules rouges qu'on laisse dessécher à l'air libre ou que l'on porte à l'étuve à $+ 37^{\circ}$. Ces lames sèches pourront être utilisées tout de suite ou conservées quelques jours pour faire des réactions en série.

Exécution de la réaction. — Le sang sec est ensuite dilué avec 0 cc 03 d'une solution de chlorure de sodium à 3,5 %. On ajoute alors 0 cc 3 d'antigène de Meinicke préparé exactement comme pour la réaction de clarification MKR¹ en milieu neutre (1 volume d'extrait pour 10 volumes d'eau salée à 3,5 %, mélange par transvasement à $+ 56^{\circ}$, mûrissement pendant 2 minutes). On mélange intimement en imprimant à la lame pendant 3 minutes des mouvements d'oscillation dans tous les sens et on porte la lame dans une chambre humide ou à la température du laboratoire. (Pour effectuer les réactions en série on pourra utiliser avantageusement une planchette munie de cases

de la grandeur des lames servant à la réaction, afin d'agiter en une seule fois toutes les lames.)

Lecture. — Au bout de 45 minutes on fait une lecture au microscope sous un faible grossissement.

Le liquide apparaît plus ou moins teinté par l'hémoglobine et on y distingue des globules rouges déformés, dispersés ou en amas.

Les réactions positives sont caractérisées par la formation d'un flocculat constitué par des amas brunâtres ou noirs, opaques, plus ou moins compacts analogues à ceux de la MKR^{II} mais néanmoins moins distincts à cause de la coloration et du défaut de clarté des espaces intercalaires. On peut différencier très nettement les trois degrés de positivité :

Fortement positif (+++), moyennement positif (++) , positif (+) que nous avons trouvés par la réaction de clarification de Meinicke suivant la grosseur et l'opacité des agglomérats et la clarté des espaces entre ces agglomérats.

Dans les réactions négatives le champ est rempli de granulations fines réparties d'une façon homogène. Dans les cas de réactions douteuses, quand il y aura un mauvais contraste entre les très fins amas et les espaces clairs, il sera bon de refaire une seconde lecture après avoir agité à nouveau et reporté la lame une demi-heure dans la chambre humide. Il arrivera souvent que les amas seront plus nets, mais il importe de ne pas dépasser le temps indiqué pour ne pas courir le risque d'obtenir des résultats non spécifiques.

2° TECHNIQUE MODIFIÉE DE KO-DA-GUO.

Tout dernièrement Ko-Da-Guo (40) en Allemagne reprit la réaction de Chédiak et il élaborâ une technique qui apportait une nette amélioration tant au point de vue de la défibrination que de l'inconnue que constitue la quantité exacte de sang prélevé. C'est en mars 1938 qu'il publia cette technique sous le nom de Papier Verfahren = méthode au papier.

Prélèvement. — Le sang est prélevé également par piqûre à l'extrémité du doigt ou au lobule de l'oreille et il est absorbé au moyen d'une rondelle de papier filtre de 12 millimètres de diamètre. Il faut prendre soin de bien imprégner les deux côtés de la rondelle de papier. Celle-ci est montée sur une épingle et on la laisse sécher pendant 15 minutes à la température du laboratoire ou à l'étuve à $+ 37^{\circ}$. Comme pour la réaction de Chédiak, cette réaction pourra être pratiquée immédiatement ou sous quelques jours.

Exécution de la réaction. Dans la concavité d'une lame creuse on dépose 0,05 d'une solution de chlorure de sodium à 3,5 % et l'on place la rondelle sur le sommet de la goutte, on porte la lame dans une chambre humide ; au bout d'un quart d'heure, quand l'imprégnation de la rondelle est parfaite on la retire avec une pince ou un fil de platine flambé.

Elle s'est en partie décolorée au profit de l'eau salée.

On ajoute alors une goutte d'antigène de Meinicke

préparé suivant la technique habituelle ; on agite la lame pendant trois minutes pour bien mélanger et on la reporte dans la chambre humide. On fait la lecture au microscope à un faible grossissement comme pour la réaction de Meinicke et de Chédiak.

La lecture de la réaction de Ko-Da Guo est plus facile que celle de Chédiak parce que les stromas globulaires sont restés collés sur le papier ; l'eau salée n'a dissous que l'hémoglobine et les protéines sauf la fibrine.

Avec les sérums positifs on distingue des grains plus ou moins volumineux ou des amas compacts qui se détachent nettement sur le fond à peine coloré du liquide.

Avec les sérums négatifs le champ est uniformément teinté ponctué de fines granulations uniformément réparties.

Cette réaction a le mérite de pouvoir être effectuée en deux séries, suivant la méthode complète de Meinicke en faisant une seconde épreuve avec l'antigène alcalinisé par addition de Carbonate de Soude à l'eau salée à 3,5 % et avec une dose réduite de sérum. Dans ce cas le sang est recueilli sur une rondelle de papier plus petite ayant seulement 8 millimètres de diamètre et qui absorbe moitié moins de sang que la première ; la technique de la réaction est la même que la précédente. Cette seconde épreuve convient spécialement aux sérums hyperpositifs elle permet dans tous les cas d'évaluer le degré de réactivité du sang.

3^o RÉACTION DE BORDET-WASSERMANN
SUR LE SANG DESSÉCHÉ.

Poursuivant l'étude sur l'utilisation du sang desséché nous avons cherché avec M. Demanche si la réaction de Wassermann pouvait elle aussi comme les réactions de floculation être pratiquée par ce procédé. Nous y étions encouragés par ce fait que la réaction du Dr Demanche que nous pratiquons au laboratoire n'exige qu'une quantité minime de 0,05 et n'en est pas moins douée d'une très grande sensibilité. Cette simple goutte de sérum est mise en contact avec un mélange à parties égales de complément préalablement titré et d'antigène ; ce mélange qui est appelé antigène activé est introduit à la dose de 0,6. Deux antigènes, un extrait simple et un extrait cholestériné sont utilisés. Après une heure de fixation à la température du laboratoire on ajoute 0,6 de globules de mouton sensibilisés.

C'est cette technique que nous avons adaptée à nos recherches en réduisant le dispositif de la réaction à deux tubes : un tube témoin et un tube de réaction avec l'antigène cholestériné seul qui est le plus sensible.

Pour recueillir le sang nous nous servons de papier-filtre comme le faisait autrefois Noguchi pour les antigènes et comme l'a fait plus récemment encore Ko-Da Guo dans la réaction de Meinicke. Ce procédé permet de mesurer avec une exactitude suffisante la

quantité de sang recueillie et il a l'avantage de fixer dans le coagulum fibrineux qui reste adhérent au papier, les stromas globulaires ; ceux-ci n'apporteront désormais aucune gêne à la lecture de la réaction. Après divers tâtonnements nous avons adopté, comme matériel de prélèvement, deux rondelles de papier-filtre ordinaire de 24 millimètres de diamètre.

Prélèvement. Après une simple piqure de l'extrémité du doigt ou du lobule de l'oreille on imprègne complètement de sang chacune des rondelles. La quantité de sang ainsi recueillie sur une rondelle est de 0 gr 05 à 0 gr 06.

On monte les rondelles sur une épingle et on les laisse sécher à l'air libre ou dans une étuve à + 37°. Il est inutile de les chauffer à + 56° pour détruire le complément ; nous nous sommes assuré que le sang desséché avait perdu tout pouvoir hémolytique.

Exécution de la réaction. Chaque rondelle roulée sur elle-même est introduite dans un tube à hémolyse et on ajoute dans le premier 0,6 d'antigène cholestériné activé (0,3 antigène cholestériné + 0,3 complément) et dans le second 0,6 de complément dédoublé avec la solution de chlorure de sodium à 9 ‰ (eau physiologique activée).

On incline les tubes pour humecter le papier ; il suffit ensuite de leur imprimer quelques secousses pour dérouler les rondelles qui s'étalent sur la paroi des tubes.

Elles se décolorent rapidement. On les laisse ainsi pendant une heure à la température du laboratoire ;

on les tire ensuite à l'orifice du tube avec un fil de platine flambé et on les laisse égoutter quelques instants avant de les enlever. Le liquide contenu dans les tubes est assez fortement teinté parce que l'hémoglobine du sang y a diffusé, mais il est parfaitement limpide et ne contient pas d'hématies. On ajoute dans chacun des deux tubes 0,6 de globules rouges sensibilisés et on porte au bain-marie à $+ 37^{\circ}$. On fait la lecture au bout de 15 à 20 minutes, dès que l'hémolyse est complète dans le tube témoin. Pour la faire plus facilement il est bon d'ajouter dans tous les tubes 1 cc d'eau salée à 9 ‰ de manière à atténuer la coloration du liquide. Les résultats sont appréciés comme d'habitude d'après l'opacité du tube de réaction, le tube témoin étant toujours parfaitement clair.

TABLEAU V.
BORDET-WASSERMANN PAPIER.

Tubes Papier imprégné	Témoin Sang	Réaction Sang
Antigène cholestériné activé	»	0,6
Eau salée 9 ‰ activée.....	0,6	»
Retirer les papiers au bout d'une heure.		
Globules rouges sensibilisés.....	0,6	0,6
Mettre 15 à 20 minutes à l'étuve à 37° .		

III

RÉSULTATS ET DISCUSSION DES RÉSULTATS

A) Réactions de Chediak et de Ko-Da Guo.

Nous avons pratiqué les réactions de Chediak et de Ko-Da Guo sur 520 sujets : 403 étaient atteints de syphilis aux différentes périodes, traitée et non traitée, 106 étaient indemnes de syphilis et pour 11 le diagnostic était incertain.

Nous avons fait porter notre étude sur une majorité de cas pouvant donner différents degrés de positivité et la proportion des sujets examinés atteints sûrement de syphilis s'élève à 77,5 %. Nous nous sommes donc attachés à ne prendre des sujets négatifs que dans la proportion où ils nous étaient nécessaires comme témoins négatifs, pour effectuer nos réactions avec sécurité.

Sur les 403 réactions pratiquées sur des sujets syphilitiques nous avons obtenu le pourcentage suivant de positivité avec les différentes méthodes employées :

Réaction de Chediak.....	67,7 %
Réaction de Ko-Da Guo	65,5 %
Réaction de Bordet-Wassermann.....	69,9 %
Réaction de Kahn	74,6 %
Réaction de Meinicke M. K. R. II	75,6 %

Nous n'avons pu établir de pourcentage exact avec la réaction de Hecht ; il est en effet faussé par le fait que dans plusieurs cas les sérums étaient anti-complémentaires et nous n'avons pas pu alors employer cette méthode ; néanmoins nous avons pu constater à la suite de nombreux auteurs sa très grande sensibilité ; celle-ci se manifeste à la période primaire où elle donne souvent des résultats positifs précoces et dans les syphilis traitées où elle cède quelquefois assez difficilement au traitement. Nous n'avons pratiqué d'autre part les réactions de Vernes et de Calmette et Massol que lorsque les résultats obtenus avec les autres méthodes nous semblaient devoir être précisés utilement. D'après le pourcentage de positivité obtenu nous voyons que les réactions de Chediak et de Ko-Da Guo présentent une valeur sensiblement égale. Toutes deux peuvent être rapprochées de la réaction de Bordet-Wassermann mais elles n'ont pas toutefois la sensibilité de la réaction de Kahn et de la réaction de Meinicke MKR^{II}. Nous signalerons que la réaction de Chediak nous a donné quelquefois des résultats plus précoces dans les syphilis primaires à la période du chancre, ou plus intenses dans les syphilis traitées et sur le point d'être négativées que celle de Ko-Da Guo ; dans les syphilis traitées elles cèdent au traitement à peu près comme la réaction de Bordet-Wassermann,

mais plus vite que les réactions de Kahn et de Meinicke. Cependant elles cèdent moins rapidement que le Vernes.

Les résultats discordants que nous avons trouvés sont au nombre de 16 (4,2 %) pour la réaction de Chédiak et de 20 (4,9 %) pour la réaction de Ko-Da-Guo. Ils ont trait à des cas de chancres syphilitiques récents de 8 à 10 jours n'ayant fourni que des résultats partiels, à des cas de chancres syphilitiques traités et ne donnant plus que par le Kahn ou le Meinicke, enfin à des syphilis latentes faiblement positives.

	Chédiak	Ko-da guo
Chancres de 8 à 10 jours.....	3	5
Chancres traités	1	2
Syphilis latentes et traitées	12	14

Nous n'avons cependant jamais obtenu de résultats positifs à tort, mais le grand défaut de ces méthodes est la difficulté de lecture dans les cas où la floculation est peu intense. Cet inconvénient existe surtout pour la réaction de Chédiak ; dans le liquide qui est coloré par l'hémoglobine dissoute, les globules rouges disposés en amas ou en réseau peuvent faire croire à tort à un résultat faiblement positif ; ils empêchent toutefois, d'affirmer que la réaction soit négative. A ce point de vue la technique de Ko-Da-Guo présente l'avantage de montrer sous le microscope un champ plus uniforme et où, malgré la coloration quelquefois assez forte, les petits amas sont décelés avec plus de certitude ; les résultats négatifs sont également bien plus nets.

Proportion des résultats douteux.

Réaction de Chediak.....	15,3 %
Réaction de Ko-Da Guo.....	13,6 %
Réaction de Bordet-Wassermann.....	9,1 %
Réaction de Kahn.....	9,4 %
Réaction de Meinicke M. K. R. II ..	8,7 %

En consultant le tableau récapitulatif VI nous voyons que ces réactions douteuses se manifestent au début de la maladie, à la période du chancre, et surtout dans les syphilis traitées quand la sérologie tend à devenir négative.

Par contre nous avons obtenu d'excellents résultats dans les autres formes de la syphilis : syphilis secondaire, syphilis tertiaire, syphilis artérielle (aortites), syphilis du névraxe (tabès, paralysie générale), syphilis oculaire, où les méthodes au sang sec ne sont manifestées avec autant d'intensité que les réactions de Kahn et de Meinicke.

Nous donnerons p. 55 quelques exemples qui feront mieux comprendre nos conclusions.

Il n'est pas nécessaire d'effectuer la réaction de Chédiak et de KO-Da-Guo dans un laps de temps très court, après que le prélèvement a été fait, pour obtenir de bons résultats. Nous avons pu garder des échantillons de sang syphilitique qui, au bout de 3 semaines ou un mois, nous donnaient des résultats avec autant d'intensité ou de netteté. Néanmoins nous n'avons pas pu obtenir des résultats identiques avec des échantillons ayant trois ou quatre mois et même six mois. Les réactions positives ne conservaient pas tou-

	Hecht	B.-W.	Kahn	Mei- nicke	Calmette Massol	Vernes	Chédiak	Ko-Da Guo
Chancres syphilit. non traités, ultra +								
Cau... ch. de 10 j.	—	—	—	—	—	0	—	—
Pat... » 15 j.	—	—	—	++++	—	0	±	—
Tho... » 15 j.	+++	++	++++	++++	++	12	±	±
Hey... » 15 j.	+++	+++	+	++++		12	++	+
Mal... » 3 sem.	+++	+++	++++	++++		52	++++	+++
Har... » 6 sem.	+++	+++	++++	++++		120	+++	+++
Ch. traités ultra +								
Maz... ch. de 15 j...	—	±	+	±			±	±
Traitement	+++	++	++++	++++		22	++	+
»	+++	++	++++	++++		7	+	+
»	+	—	+++	+++		0	±	±
Ultra +								
Zer... ch. de 15 j. .	—	—	+	++++			±	—
Traitement	++	++	++++	++++			++	++
»	+	+	+	++++			+	+
»	+	±	±	+			+	±
»	—	—	—	—			—	—
<i>Syphilis secondaires:</i>								
Theo... roséole . . .	+++	+++	+++	+++		63	+++	+++
Jeha... » . . .	++	++	+++	+++	++	10	++	++
Guy... » . . .	+++	+++	+++	++	+++	52	+++	+++
<i>Syphilis tertiaires :</i>								
Acib... accidents cu- tanés tertiaires...	+++	+++	+++	+++	+++	17	+++	+++
Len... Tertiarisme nasal.....	+++	+++	++	++		109	+++	+++
<i>Syphilis latentes :</i>								
Ram... syphilis an- cienne.....	+++	+++	++	+++		87	+++	+++
Pi... syph. traitée..	+++	++	±	+++		4	++	++
Bar... » ..	—	+	+	+++		0	+	±
Dest... » ..	—	—	±	+			±	—
Desch... » ..	+++	±	+	+			±	±
Huss... » ..	—	—	±	—			±	—
<i>Aortites :</i>								
Ne... aortite.....	+++	+++	+++	+++		16	+++	+++
Dec... insuffisance aortique	+++	+++	+++	+++		70	+++	+++
Mat... aortite	+++	+++	+++	+++	+++	37	+++	+++
<i>Syphilis nerveuses :</i>								
Tour... P. G.	+++	+	++	+++	+	24	+++	+++
Mar... P. G.	+++	+++	++	+++	+++	13	+++	+++
Bla... P. G. traité ..	+++	+++	++	+++	+++	10	++	+
Jur... P. G. traité ..	+++	+	++	+++		14	+	+
Mois... P. G. traité.	+++	+++	±	±		21	+++	+++
Lal... Tabès.....	+++	+++	+++	+++		31	+	+
Tre... »	++	+	±	±	±	1	±	±

jours la même intensité et semblaient se négativer à la longue.

	Hecht	B.-W.	Kahn	Meinicke	Calmette Massol	Vernes	Chédiak	Ko-Da-Guo
<i>Syphilis oculaire :</i>								/
Gom... Kératite syphilitique	+++	+++	++	++		51	++	++
Dem... Neuro-réti- nite.....	+++	+++	++	+++		15	++	++
<i>Hérédo-syphilitique</i>								
Ell... H.-syph. 17 ans.....	+++	+++	+	++		107	++	++
Tra... H.-syph. 7 mois 1/2	—	—	—	—			—	—
Flu... H.-syph. 6 mois	—	—	—	—			—	—

B) Réaction de Bordet-Wassermann sur le sang desséché.

Nous avons étudié par ce procédé le sang de 400 malades ; tous avaient été examinés cliniquement ; nous avons contrôlé leurs réactions sérologiques dans tous les cas par la réaction de Bordet-Wassermann (technique du Dr Demanche) et en outre, par les réactions de Kahn et de Meinicke (MKR^m), 127 avaient une sérologie négative par toutes les méthodes ; parmi ceux-ci 103 étaient indemnes de toute syphilis, 2 portaient des chancres récents, 22 avaient une syphilis ancienne et traitée.

— 273 étaient positifs par une réaction au moins, sinon par toutes.

Nous avons obtenu sur l'ensemble des examens, avec la méthode au sang sec sur papier, 336 résultats concordants dont 127 négatifs et 209 positifs.

La concordance a été parfaite pour tous les sérums négatifs. Aucun d'entre eux n'a donné de résultat positif, ni même douteux nous pouvons donc affirmer que l'introduction du papier ne gêne en rien l'hémolyse. La réaction reste aussi spécifique que lorsqu'on l'exécute avec le sérum.

Les discordances ont porté exclusivement sur les sérums positifs. Ils étaient au nombre de 273, si l'on compte tous les résultats même les plus faibles, fournis par l'une au moins des trois méthodes de Bordet-Wassermann, Kahn et Meinicke associées. Ils n'ont donné que 209 réactions positives par la réaction de Bordet-Wassermann papier soit une différence en moins de 64, c'est-à-dire 23 %.

Mais à cette différence concourent 26 sérums qui n'ont manifesté leur positivité que par les méthodes de flocculation. Si on limite la comparaison au seul Bordet-Wassermann la différence n'est plus que $247 - 209 = 38$. En définitive, en ce qui concerne les méthodes de fixation du complément, le défaut de sensibilité du procédé au sang sec par rapport au procédé au sérum est donc de l'ordre de 15 %.

Nous avons consigné les résultats détaillés dans le tableau VII :

TABEAU VII.

	Total des cas	Résultats positifs			
		B.-W. Papier	B.-W. Sérum	Kahn	Mei- nicke
Chancres syphilitiques :					
non traités	35	22	26	33	33
traités.....	13	7	12	13	13
Syphilis secondaires :					
non traitées.....	25	25	25	25	25
en traitement	26	23	26	26	26
Syphilis tertiaire ulcéro- gommeuse	7	7	7	7	7
Syphilis nerveuse.....	37	31	35	37	37
Syphilis ancienne traitée latente	88	45	57	66	66
Syphilis ignorée sérolo- gique.....	59	43	53	59	59
Syphilis héréditaire avec accidents	7	6	6	7	7
TOTAUX	297	209	247	273	273

Inversement en ajoutant, toujours dans le procédé au sang sec, les résultats des méthodes de floculation à ceux de la réaction de Bordet-Wassermann, nous avons constaté que parmi les 38 sérums positifs pour la réaction de Bordet-Wassermann sérum seul, 29 ont donné une réaction de Chédiak ou de Ko-Da-Guo nettement positive, et que ces mêmes réactions ont été encore 5 fois positives dans le groupe des 26 sérums positifs avec les réactions de Kahn ou de Meinicke seuls ; si on envisage l'association des méthodes d'hémolyse et des méthodes de floculation, le défaut de sensibilité du procédé au sang sec par rapport

au procédé au sérum ressort donc à $273-243 = 30$, soit 10 % seulement.

D'après le tableau récapitulatif *VII* on voit que, si dans la syphilis secondaire et au cours des accidents

	Hecht	B.-W. Sérum	Kahn	MKR ^{II}	Calmette Massol	Vernes	B.-W. Papier
Maz... Ch. de 15 jours ultra + 2 février	—	±	+	+			+
En traitement 9 février...	+++	++	++++	++++		22	+
» 15 février ..	+++	+	++++	++++		7	++
» 21 février...	+	—	++++	++++		0	—
Zer... Ch. de 15 jours ul- tra + 21 janvier	—	—	+	++++			—
En traitement 8 février...	++	++	+++	++++			+
» 14 février...	—	++	+	++++			—
Après trait. 5 mars.....	—	—	—	—			—
Caud... Syphilis secondaire cutanéomuqueuse ;							
18 mars.....	+++	++++	++++	++++		71	+++
En trait. 24 mars.....	+++	++++	++++	++++		67	+++
» 4 avril.....	+++	++++	++++	++++		28	++
» 18 avril.....	+++	++++	++++	++++		14	++
» 25 avril.....	+++	++++	++++	++++	++	4	+
» 2 mai.....	++	++	+	++++	++	0	—
Woe... Syphilis secondaire en cours de traitement :							
22 février.....	+++	++++	++++	++++		96	+++
25 février.....	+++	++++	++++	++++		90	+++
10 mars.....	+++	++++	++++	++++		87	+++
18 mars.....	+++	++++	++++	++++		40	+++
24 mars.....	+++	++++	++++	++++		35	+++
4 avril.....	+++	++++	++++	++++		19	+
25 avril.....	+++	++++	++++	++++	+	5	++
2 mai.....	+++	++++	++++	++	++	2	+
20 mai.....	++	++	++++	++	++	1	+

tertiaires cutanéomuqueux, le Bordet-Wassermann Papier, se montre égal aux réactions faites avec le sérum, son défaut de sensibilité apparaît au début de la période primaire et se manifeste surtout sous l'in-

fluence du traitement, qu'il s'agisse de chancres ou de syphilis anciennes latentes. Il cède trop facilement, moins cependant que le Vernes ; mais il demeure régulier et ne donne pas de résultats fantaisistes ; quelques exemples (p. 59) le montrent plus clairement :

Nous avons cherché enfin si le sang ainsi desséché conservait longtemps ses propriétés. Nous avons gardé jusqu'à 6 semaines des rondelles de papier imprégnées de sang positif et nous avons constaté qu'au bout de ce temps elles donnaient des réactions aussi intenses et aussi nettes qu'au moment du prélèvement.

CONCLUSION

Nous n'insisterons pas sur les conclusions que nous pouvons tirer de la confrontation des résultats obtenus d'une part avec les méthodes au sang chauffé (Bordet-Wassermann ; Calmette-Massol ; Demanche) et d'autre part avec les méthodes au sang frais (Hecht). Nous pouvons cependant dire, conformément à nos prédécesseurs, que la méthode au sang frais ne présente pas la même régularité de réponse et par conséquent la même certitude que les méthodes au sang chauffé.

Si maintenant nous comparons entre eux les résultats des réactions d'hémolyse et les résultats des réactions de floculation, nous constaterons une plus grande sensibilité en faveur des méthodes de floculation (Kahn-Meinicke MKR^{II}).

De même si nous mettons en opposition les résultats obtenus d'une part avec le sérum (par les méthodes d'hémolyse et de floculation) et d'autre part avec le sang desséché par les deux méthodes de Chédiak et de Go-Da-Guo, nous pouvons d'une façon générale conclure à une sensibilité à peu près égale pour les deux séries d'essai. Pourtant il nous faut remarquer que, si les résultats, obtenus avec le sang desséché,

sont toujours bien comparables à ceux que donne la réaction classique de Bordet-Wassermann avec le sérum chauffé, ils font montre d'une finesse un peu moins grande que les résultats obtenus avec le sérum par les méthodes de floculation. Cette constatation confirme donc ce que nous avons dit plus haut.

Enfin, arrivant à ce qui présente la partie principale de notre travail, nous examinerons particulièrement la valeur des méthodes qui utilisent le sang desséché.

Bien qu'elles ne présentent pas la rigueur des méthodes classiques, les méthodes de floculation sur le sang desséché sont susceptibles de rendre des services; elles seront pratiquées utilement dans les cas où la ponction veineuse s'avère difficile, chez les nourrissons par exemple, ou lorsqu'elle a besoin d'être répétée fréquemment pour une surveillance sérologique continue; de plus, elles ont l'avantage d'être acceptées sans réticence par les malades.

Ces méthodes sont simples, expéditives, d'un prix de revient minime et n'exigent qu'un matériel restreint.

Elles peuvent rendre des services pour un triage rapide et provisoire de collectivités: dans les usines, aux armées chez les populations indigènes; elles permettent le recensement rapide et peu coûteux d'une population au point de vue syphilis et c'est dans ce sens qu'elles sont utilisées en Allemagne.

Dans un cadre plus restreint, elles pourront se montrer précieuses pour le médecin de Marine qui ne peut toujours utiliser les services d'un laboratoire bien installé.

Néanmoins ces méthodes de floculation sur le sang sec sont des méthodes grossières : les proportions d'antigène et de sérum n'y sont pas exactement définies ; elles ne permettent pas de faire des examens multiples. Elles ne doivent donc pas être substituées aux méthodes classiques dont elles n'ont ni la sensibilité ni la précision et doivent être réservées à un triage rapide. D'autre part malgré leur simplicité, elles doivent être confiées à des mains expertes par suite de la difficulté d'interprétation qu'elles présentent quelquefois quand la spécificité du sang est peu marquée.

Nous avons voulu montrer qu'il était également possible de compléter ces réactions de floculation de Chédiak et de Ko-Da-Guo par une réaction de Bordet-Wassermann exécutée au moyen du sang desséché. Faite dans ces conditions, la réaction demeure spécifique et donne des résultats réguliers. Elle est toutefois moins sensible que la réaction normale effectuée avec le sérum surtout dans les syphilis traitées.

Remarquons, enfin, qu'il ne s'agit pas là d'une méthode de vulgarisation car elle exige les mêmes titrages et les mêmes contrôles que le Bordet-Wassermann ordinaire.

Associée aux méthodes de floculation elle renforce la valeur et augmente la sécurité des procédés au sang desséché. Elle présente les mêmes avantages que ceux que nous avons décrits pour les réactions de Chédiak et de Ko-Da-Guo ; elle permet par la facilité du prélèvement de répéter fréquemment les examens, et

d'autre part elle facilite l'expédition par la poste des échantillons de sang.

Enfin du point de vue biologique, nous avons pu constater que la « réagine » syphilitique dont on connaît la résistance à la chaleur, résiste aussi à la dessiccation et à l'épreuve du temps.

Vu : le Président de la thèse,

LUTZ.

Vu : le Doyen,

Paris, le 7 février 1940.

A. DAMIENS.

Vu et permis d'imprimer :

le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABADJEF (G.). — Valeur de la réaction de Kahn pour le séro-diagnostic de la syphilis. *Zeitsch. f. hyg.*, 1927, t. CVII, p. 742.
2. ARMAND-DELILLE et NÈGRE. — Technique de la réaction de déviation du complément de Bordet et Gengou, 2^e édit. Paris, Masson, 1922.
3. BARZIZZA (C. M.), — La micro-réaction de Chédiak pour le diagnostic de la syphilis réalisé avec une goutte de sang sèche. *La Semana Medica*, 1939. t. VI, p. 313-318.
4. BERGERON (A.). — Réaction de Vernes, réaction de Wassermann et mesure de l'infection syphilitique. *Presse médicale*, 1925, t. I, n° 46, p. 762-772.
5. BÖHME. — Utilisation de la réaction sur le sang desséché, d'après Chédiak, pour le séro-diagnostic de la syphilis. *Klin. Woch.*, 1937, n° 7, p. 225.
6. BONNET (H.) et NEVOT (A.). — Travaux pratiques de bactériologie. Paris, Masson, édit., 1936.
7. BORDET (J.). — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Paris. Masson, édit., 1920.
8. BORDET (J.) et GENGOU. — Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens, *Ann. Inst. Pasteur*, 1907, t. XV, p. 289.
9. BORDET et RUELENS. — L'antigène syphilitique de l'Institut Pasteur de Bruxelles. Réunion de la Société belge de biologie, in C. R. Soc. biol., 1919, t. LXXXII, p. 880.

10. BRANDT (R.). — Importance de la concentration saline pour les réactions sérologiques. *Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Thera. orig.*, 1922, vol. XXXIV, p. 304.
11. BRUCK (C.). — Manuel de séro-diagnostic de la syphilis, Berlin (J. Springer) 2^e édit., 1924.
12. BUCKER et MONTARLAND. — Le taux de la globuline contenu dans le sérum sanguin des syphilitiques. *Arch. of. Dermat. a. Syph.*, 1922, t. V.
13. CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOCQUET (A.). — Manuel technique de microbiologie et sérologie. Paris, Masson, 3^e édit. 1933.
14. CALMETTE et MASSOL. — C. R. de la Soc. de Biol. 1911, t. LXXI, p. 191, 1912, t. LXXII, p. 15, 1913, t. LXXV, p. 60 et 1914, t. LXXVI, p. 138.
15. CESARI. — Etude de la fonction antigénique des lipoides. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1930, t. V, p. 534.
16. CHÉDIAK (A.). — Simplificación del diagnostico serologico de la sífilis por la microreaccion de Chediak realizada con una gota de sangre seca. *Arch. med. inf. hosp. garcia*, 1932, t. I, p. 3 ; *El Siglo med.* 1^{er} octobre 1932 ; *Arch. med. int. La Havane* 1935, t. I, n° 2.
 - Cincos anos de experiencia con la micro reaccion Chediak para el diagnostico de la sífilis con una gota de sangre seca. *Rev. med. Cubana*, 1938, May, p. 49, 464, 505.
 - La micro-réaction Chédiak dans le diagnostic de la syphilis. Réaction à la « goutte de sang sèche ». *El Dia medico*, 1939, t. II, n° 15, p. 294-298.
17. CORMIER (M.). — Etude comparée de la réaction de Bordet-Wassermann et des réactions de floculation. Thèse de Pharmacien Supérieur, 1932, Paris.
17. DAHR (bis). — La réaction du sang sec de Chédiak est-elle valable ? *Deutsche med. Woch.*, 1934, p. 94,

Münch. med. Woch., 1934, p. 1723 ; *med. Welt.*, 1936, p. 265 ; *Dermatologische Wochen*, 1937, t. CIV, n° 24, p. 709.

18. DEMANCHE (R.). — Les réactions sérologiques de la syphilis *in* traité de la syphilis de Jeanselme, 1931, t. III. Doin, édit.
- 18 bis. DEMANCHE (R.). — Précis de technique du séro-diagnostic de la syphilis, 1936. Paris, Doin, 2^e édit.
19. DEMANCHE (R.). — Les récents progrès de la réaction de Wassermann : exposé d'une technique personnelle. *Presse Médicale*, 10 janvier 1924.
20. DEMANCHE (R.). — Les principes directeurs de la réaction de Bordet-Wassermann. Essai de normalisation. *La Prophylaxie antivénérienne*, novembre 1935, n° 11.
21. DEMANCHE (R.). — Le séro-diagnostic de la syphilis au moyen du sang desséché : réactions de floculation (réaction de Chédiak et réaction de Ko-Da-Guo). *Bull. de la Soc. franç. de Dermat. et de Syph.*, décembre 1938, n° 9, p. 1823.
22. DEMANCHE (R.). — Les résultats discordants dans la sérologie de la syphilis. *La Semaine des Hôpitaux*, 1^{er} février 1939.
23. DEMANCHE et GUËNOT (L.). — Valeur de la floculation (méthode de Vernes) comparée aux autres méthodes sérologiques pour le diagnostic et le pronostic de la syphilis. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1924, t. XXXVIII, p. 625.
24. DEMANCHE (R.) et LEMELAND (M.). — Le séro-diagnostic de la syphilis au moyen du sang desséché : la réaction de Bordet-Wassermann. *Bull. de la Soc. franç. de Dermat. et de Syph.*, 1939, n° 4, p. 709.
25. DESMOULIÈRE. — L'antigène dans la réaction de Wassermann C. R. de l'Acad. des Sciences 1912, t. XCV, p. 592 et 1913, t. XCVI, p. 338.

26. DOLD (H.). — Réaction de la floculation simplifiée, rapidement et microscopiquement visible. *Med. Klin.*, 1921, n° 21, p. 940.
27. DOURIS (R.). — Guide pratique pour l'analyse du sang, 1924, Paris, Vigot, édit.
28. DOURIS et BECQ. — Sur le mode d'action des réactifs utilisés pour le séro-diagnostic. C. R. de l'Acad. des Sciences, 1928. t. CLXXXVI, p. 257-259.
29. DOURIS et BRICQ. — Séro-diagnostic de la syphilis ; la méthode de Vernes et la syphilimétrie. *Bull. des Sciences pharmacol.*, 1918, t. XXV, p. 321-334.
30. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.). — Floculation des sérums en présence des mélanges antigènes teintures de résines. Thèse de doctorat de la Faculté des Sciences. Paris, 1929.
31. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et KOSSOVITCH. — Antigènes, Hétéroantigènes et Haptènes vol. I, Baillière et fils, édit. Paris, 1937.
32. ELIAS. — Technique et application de la réaction de floculation au séro-diagnostic de la syphilis. *Wien. klin. Woch.*, 1908, n° 23, p. 831.
33. FALCON (S.) et CHÉDIAK (A.). — El diagnostico de la sifilis en raciem nacido por la microreaccion Chediak. *Rev. med. Cubana*, septembre 1934, p. 45, 919, 939.
34. GEORGI (W.). — Le séro-diagnostic de la syphilis par la floculation. *Dermat. Woch.*, 1919, vol. LXVIII, p. 193.
35. HECHT. — Une simplification de la réaction de fixation du complément dans la syphilis. *Wien. Klin. Woch.*, 1909, t. XXI, n° 10, p. 338.
36. JACOBSTAHL. — Méthode optique de séro-diagnostic de la syphilis. Soc. Méd. de Hambourg, 16 novembre 1909 ; in *Münch. med. Woch.*, 1909, p. 2607.
37. KAHN (R.-I.). — Une réaction quantitative simple de précipitation pour la syphilis. *Arch. of Dermat. a. Syph.*, 1922, vol. V, p. 570 et vol. 6, p. 734.

- Une méthode rapide de précipitation pour la réaction de Kahn dans le diagnostic de la syphilis.
- *Journ. of Americ. med. assoc.*, 1923, t. LXXXI, n° 2, p. 88.
- Le séro-diagnostic de la syphilis par précipitation. *Arch. of Dermat. a. Syph.*, décembre 1924, vol. X e 1925 Baltimore (Williams, Wilkins et Co).
- 38. KAPSENBERG. — Recherches sur le rôle de la globuline dans la réaction de Wassermann. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1921, t. XXXV, n° 5, p. 338.
- 39. KLAUSNER. — Sur une méthode de séro-diagnostic de la syphilis. *Wien. klin. Woch.*, 1908, n° 7, p. 214 et n° 11, p. 363.
- 40. KO-DA-GUO. — Réaction de Ko-Da-Guo : Papier-Verfahren : *Deutsche med. Woch.*, 1938, n° 19 et 1938, n° 29.
- 41. KOSOVITCH. — Réaction de floculation des sérums syphilitiques par la méthode des mélanges anti-gènes résines. Thèse de Paris, 1928.
- 42. LANDSTEINER (K.). — The specificity of serological reactions. 1 vol. London, Baillière, Tindal et Cox, 1936.
- 43. LANDSTEINER et POTZL. — Sur la possibilité d'employer des organes non syphilitiques pour la réaction de fixation du complément dans la syphilis. *Wien klin. Woch.*, 1907, n° 17, p. 514.
- 44. LÉGER (M.). — Ce qu'il faut savoir de la méthode de Vernes. Paris, Maloine, 1929.
- 45. LESSER. — Technique et nature de la réaction de Wassermann. *Berlin klin. Wochens.*, 29 mai 1909, p. 974.
- 46. LETTNER. — Résultats de la réaction de Meinicke MKR^{III} avec le sang desséché dans la syphilis (procédé Chédiak). *Derm. Zeitschrift*, 1935, t. LXXI, fasc. 6, p. 247.
- 47. LETULLE (R.). — Technique de Calmette et Massol

- pour la réaction de Bordet-Wassermann. *Presse médicale*, 25 août 1920, n° 60.
48. LEVADITI et MARIE. — Les anticorps syphilitiques dans le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux et des tabétiques. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, février 1907.
- L'action du liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux sur le virus syphilitique. *C. R. de la Soc. de biol.*, mai 1907.
49. LEVADITI et YAMANOUCI. — Le séro-diagnostic de la syphilis. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. LXIII, p. 740, 1907.
50. MEINICKE (E.) — La micro-réaction de Meinicke dans la syphilis. *Méd. clin.*, 1925, n° 4.
- Sérologie moderne de la syphilis. *Ann. de l'Institut Pasteur*, oct. 1928, t. XL, p. 876.
- Pour la connaissance de mes réactions de la syphilis : réaction d'opacification et micro-réaction. *Deutsche med. Woch.*, 1927, n° 42.
- Une nouvelle réaction de la syphilis, réaction d'éclaircissement. *Klin. Woch.*, 15 janvier 1929.
- Technique rapide microscopique de la réaction d'éclaircissement de Meinicke. *Klin. Woch.*, 4 juin 1929.
- Ma réaction d'éclaircissement dans la syphilis. *Munch. med. Woch.*, 1929, n° 8, p. 418 et n° 15, p. 628.
51. MEINICKE et VISCHER. — Micro-réaction (MKR_{II}) au sang sec dans la syphilis. *Klin. Woch.*, 1939, n° 31, p. 1060.
52. MULLER (R.). — Die trockenblutprobe als beitrage zur ausrottung des Syphilis. *München med. Wochenschr.* 85, 756, 757 May 20 1938.
53. MUTERMILCH. — La technique du séro-diagnostic de la syphilis actuellement employée à l'Institut-Pas-

- teur à Paris. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, septembre 1924, t. XXXVIII, p. 827.
54. NICOLLE. — Les antigènes et les anticorps. Paris, Masson, 1922.
55. NOGUCHI. — Séro-diagnostic de la syphilis, 3^e édit., Philadelphie, Lippincott 1912, trad. franç. par A. Girauld. Paris, Masson, 1914.
56. PIETTRE et CHRÉTIEN. — Contribution à l'étude biochimique de l'hémolyse. Edit. de la *Rev. de path. comparée*. Paris, 1928.
57. PISACANE (C.). — Sul valore della nuova reazione di Chediak leipner nella diagnosi della sifilide. *Riforma med.*, May 8, 1937, 52, 677, 681.
58. RONCHÈSE. — La réaction de Bordet-Wassermann. Paris, Masson, 1919.
59. RUBINSTEIN. — L'état actuel des méthodes employées pour le séro-diagnostic de la syphilis. *La Presse médicale*, 2 févr. 1927.
60. SACHS (H.). — Considération sur le séro-diagnostic de la syphilis par la floculation. *Zentralbl. f. Haut u geschlechts krankheit*, 1923, t. 7, n^{os} 3 et 4.
- Antigène und Antikörper, In *Haudbùrch der normalen und patholog. Physiologie*, 1929, t. XIII, p. 405.
61. SACHS et ALTMANN. — Action de l'oléate de soude dans la réaction Wassermann. *Berl. klin. Woch.*, 1908, n^o 10, p. 494.
62. SACHS et WITEBSKI. — Le séro-diagnostic de la syphilis par la floculation d'extraits cholestérinés (Réaction au Citochol et réaction au Lentochole). *Klin. Woch.*, 24 juin 1928, n^o 26, p. 1233.
63. STAHN (J.). — Erfahrung über die Trockenblutprobe nach Chediak. *Zentralbl. f. Bakt. Abst.*, 1, 139-188-193, juin 1937, t. I, p. 139, 188, 193.
64. Travaux et publications de l'Institut prophylactique. Fasc. 1 : les étapes de la syphilimétrie. Fasc. 2 :

- l'organisation de la syphilimétrie. Fasc. 3 : la portée sociale de la mesure de l'infection syphilitique. Paris, Maloine, 1922, 1923 et 1924.
65. TRIBONDEAU. — Sur la préparation des extraits lipoïdes épurés selon Noguchi pour réaction de Wassermann. *C. R. Soc. biol.*, 1917, t. LXXX, p. 579.
66. VERNES (A.). — De la mesure colorimétrique de l'infection syphilitique. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 2 sept. 1918.
- Mesure pondérale de la floculation par la photométrie. *Presse médicale*, 30 décembre 1921.
67. VERNES (A.) et DOURIS. — Atlas de syphilimétrie. Les conditions expérimentales de l'extinction de la syphilis. Paris, 1920.
68. VOSS (J.). — Über den praktischen wert der trockenblut reaktion nach Chédiak. *Dermat. Wochenschrif.*, 1937, p. 105, 1204, 1206.
69. WASSERMANN. — Sur le séro-diagnostic dans la syphilis. *Wien klin. Wochens.*, 19 mars 1908, n° 12, p. 388.
- A propos de l'histoire du séro-diagnostic de la syphilis. *Berlin klin. Woch.*, 1906, n° 19, p. 745.
70. WASSERMANN, NEISSER et BRÜCH. — Une réaction séro-diagnostique dans la syphilis. *Deutsche med. Woch.*, 1906, n° 19, p. 745.
71. WENDERBERGER et SCHREINER. — Über Die lues diagnose aus einem eingetrockneten tropfen Blut nach Chédiak. *Dermat. Wochenschr.*, 1935, p. 101, 1539, 1543.
72. WENDERBORN (H.). — Untersuchungen über die Zuverlässigkeit einer trockenblutprobe nach Chédiak als lues Reaktion. *Dermat. Wochenschr.*, 1935, p. 101, 1543, 1547.

